

Dorota Kondej

**WPLÝW NANOCZĄSTEK  
TLENKÓW METALI  
NA AKTYWNOŚĆ  
MODELOWYCH BŁON  
BIOLOGICZNYCH**

Opracowano i wydano w ramach III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” (2014-2016) finansowanego w zakresie zadań służb państwowych przez Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Autor:

Dorota Kondej – Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Projekt okładki:

Anna Antoniszewska

Opracowanie redakcyjne:

Lucyna Wyciszewicz-Pardej

Opracowanie graficzne:

Dorota Szymczak

© Copyright by Centralny Instytut Ochrony Pracy –  
Państwowy Instytut Badawczy  
Warszawa 2016

ISBN: 978-83-7373-232-2

**CIOP**  **PIB**

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Czerniakowska 16, 00-701 Warszawa  
tel. (22) 623 36 98, fax (22) 623 36 93, 623 36 95, [www.ciop.pl](http://www.ciop.pl)

# SPIS TREŚCI

---

1.	Wprowadzenie .....	5
2.	Metale i tlenki metali o nanometrowych wymiarach cząstek .....	7
3.	Zagrożenia w środowisku pracy .....	9
4.	Badanie właściwości powierzchniowych modelowych błon biologicznych .....	12
5.	Wpływ nanocząstek tlenków metali na właściwości powierzchniowe jednoskładnikowej modelowej błony biologicznej .....	14
6.	Wpływ nanocząstek tlenków metali na właściwości powierzchniowe wieloskładnikowej modelowej błony biologicznej .....	20
7.	Wnioski .....	29
8.	Piśmiennictwo .....	30



# 1. Wprowadzenie

---

Rozwój gospodarczy i pojawiające się nowe zagrożenia wymagają opracowania produktów i technologii, które muszą być bezpieczne dla zdrowia i środowiska. W ostatnich latach obserwuje się intensywny rozwój tych gałęzi przemysłu, które wykorzystują lub produkują materiały w skali nano. Nanomateriały przyczyniają się do poprawy parametrów użytkowych produktów, ale mogą również oddziaływać niekorzystnie na organizm człowieka (Donaldson et al., 2012; Kendall et al., 2012; Cho et al., 2010).

Problematyka związana z bezpieczeństwem stosowania nanomateriałów to jeden z głównych obszarów zainteresowań organizacji OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*), zrzeszającej przedstawicieli 34 krajów świata i promującej zrównoważony wzrost gospodarczy (OECD, 2012). Nanomateriały zawierające metale i związki metali są szeroko stosowane w praktyce, a zbadanie ich wpływu na zdrowie człowieka zostało uznane za jeden z priorytetowych obszarów działania.

Metale (w postaci czystej i w związkach) ze względu na swoje właściwości znajdują zastosowanie lub są przetwarzane w wielu gałęziach gospodarki. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego przy produkcji metali i wyrobów z metali jest zatrudnionych około 330 tys. osób (Rocznik, 2015). Nie ma dostępnych danych dotyczących skali narażenia na nanomateriały zawierające metale i ich związki. Narażenie na nanomateriały tego typu może mieć miejsce w wielu gałęziach przemysłu wykorzystujących nanotechnologie, m.in.: w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, motoryzacyjnym (lotniczym i samochodowym), chemicznym (kompozyty, farby,

lakiery), budownictwie (zaprawy, cementy, betony, materiały wykończeniowe i izolacyjne), elektronice, biomedycynie i bioinżynierii (Zapór, 2013). Narażenie na tego typu materiały może występować również tam, gdzie nanocząstki mogą być uwalniane do środowiska pracy jako efekt uboczny stosowanych procesów.

Opracowanie jest przeznaczone dla pracodawców i pracowników zatrudnionych w warunkach narażenia na nanomateriały, w tym na nanomateriały zawierające metale i związki metali, dla osób odpowiedzialnych za bezpieczeństwo i higienę pracy w przedsiębiorstwach oraz dla laboratoriów wykonujących badania środowiska pracy.

## 2. Metale i tlenki metali o nanometrowych wymiarach cząstek

---

Zgodnie z definicją Unii Europejskiej nanomateriał to naturalny, powstały przypadkowo lub celowo wytworzony materiał zawierający cząstki, które występują jako cząstki pojedyncze, agregaty lub aglomeraty i w którym 50% lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wymiarowym ma co najmniej jeden zewnętrzny wymiar w zakresie 1–100 nm (nanoskala). W określonych przypadkach (uzasadnionych względami ochrony środowiska, zdrowia, bezpieczeństwa lub konkurencyjności) zamiast wartości progowej liczbowego rozkładu wielkości cząstek wynoszącej 50% można przyjąć wartość z zakresu 1–50% (Commission, 2011).

Do nanomateriałów o największym zastosowaniu komercyjnym należą metale i tlenki metali. Wśród nich znajdują się m.in.: srebro, żelazo, złoto, platyna, wanad, miedź, mangan, kadm, wolfram oraz tlenki glinu, ceru, tytanu, cynku, cyrkonu, molibdenu, niklu, antymonu, kobaltu, chromu, miedzi, irydu.

Metale i tlenki metali o nanometrowych wymiarach cząstek mogą występować m.in. w postaci:

- ▶ nanocząstek – nanoobiekty o trzech zewnętrznych wymiarach w nanoskali, np. srebro
- ▶ nanopłytek – nanoobiekty o jednym zewnętrznym wymiarze w nanoskali i znacznie większych dwóch pozostałych zewnętrznych wymiarach, np. tlenek cynku
- ▶ nanowłókien – nanoobiekty z dwoma podobnymi zewnętrznymi wymiarami w nanoskali i z trzecim wymiarem znacznie większym, np. ditlenek tytanu.

Należy zwrócić uwagę, że w literaturze oraz w języku potocznym spotyka się użycie terminu „nanocząstka” w odniesieniu do wszystkich wymienionych typów nanomateriałów.

Wykorzystanie cząstek o wymiarach w nanoskali ma wpływ na właściwości produktów, m.in.:

- ▶ chemiczne (właściwości katalityczne)
- ▶ mechaniczne (wytrzymałość)
- ▶ termiczne (przewodność cieplna)
- ▶ elektryczne (przewodność elektryczna, elektrostatyczność)
- ▶ optyczne (barwa, elektroluminescencja)
- ▶ biologiczne (bakteriostatyczność, bakteriobójczość) (Kellsall et al., 2009).

Przykładowo, nanocząstki tritlenku glinu stosowane są m.in. jako środek nadający odporność na ścieranie w produkcji nanokompozytów, katalizator chemiczny, przewodnik ciepła, środek nadający przejrzystość powłokom optycznym. Nanocząstki tlenku cynku wykorzystywane są w produkcji m.in. środków kosmetycznych, środków dezynfekcyjnych, materiałów kompozytowych, powłok aktywnych fotochemicznych, farb, opakowań do żywności. Nanocząstki ditlenku ceru stosowane są m.in. jako katalizator paliwa w silnikach Diesla, barwnik plastiku, warstwa buforowa dla nadprzewodników, powłoka dla filtrów podczerwieni, powłoka odporna na utlenianie, środek polerujący dla urządzeń elektronicznych, szkła, łożysk, pochłaniacz UV.



### 3. Zagrożenia w środowisku pracy

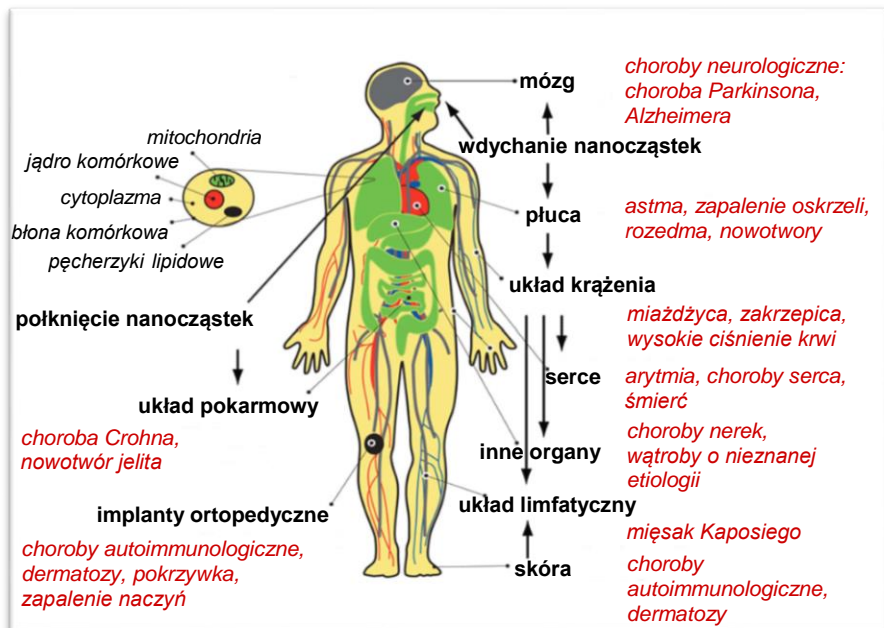
---

Cząstki zawierające metale i ich związki występujące na stanowiskach pracy stanowią zagrożenie zarówno dla pracowników, jak i dla środowiska. Na podstawie licznych badań naukowych dowiedziono, że ich toksyczność zależy m.in. od rozkładu wymiarowego cząstek, składu chemicznego oraz stężenia (Zaghbani et al., 2009; Nordberg et al., 2007; Davidson et al., 2005; Schwarze et al., 2006; Sivulka et al., 2007).

Szczególnie istotnym parametrem jest wymiar cząstek zawierających metale i ich związki wdychanych przez pracowników. Wielkość cząstek decyduje m.in. o miejscu ich depozycji w układzie oddechowym. Ponadto ich biodostępność wzrasta wraz ze zmniejszeniem wymiarów cząstek, w których są zawarte (Obersdörster et al., 2005). Nanocząstki ze względu na swoje wymiary mogą przenikać przez błony komórkowe i migrować do różnych narządów. Sprzyja temu fakt, że są słabo wychwytywane przez układ immunologiczny (Komisja, 2009). Badania wskazują, że nanocząstki mogą również pokonywać barierę krew – mózg i mogą być tam deponowane (Wang et al., 2010).

Doniesienia wskazują, że ta sama substancja chemiczna, ale o różnych wymiarach cząstek może mieć różne działanie toksyczne. Toksyczność nierozpuszczalnych cząstek o podobnej budowie wzrasta wraz ze zmniejszeniem się wymiarów cząstek oraz ze zwiększeniem ich powierzchni (Bujak-Pietrek, 2010; Świdwińska-Gajewska, 2007). Prawidłowość tę potwierdzają badania toksycznego działania tlenków tytanu, kobaltu, niklu, siarczku kadmu (Donaldson et al., 2001; Li et al., 2009).

Potencjalne zagrożenia związane z narażeniem na cząstki o wymiarach w nanoskali wskazano na rycinie 1.



**Ryc. 1.** Potencjalne skutki narażenia na nanocząstki (na podstawie Buzea et al., 2007)

Wśród głównych skutków narażenia na nanocząstki metali i ich związki wymienia się:

- ▶ stany zapalne dróg oddechowych, które mogą prowadzić do alergii i astmy
- ▶ zmiany zwłóknieniowe tkanki mięśniowej płuc

- ▶ zmiany w układzie sercowo-naczyniowym przejawiające się zaburzeniami rytmu serca i zmianami w układzie krzepnięcia, nerwowym, immunologicznym, wydzielania wewnętrznego, wydalniczym
- ▶ zaburzenia płodności
- ▶ zmiany genotoksyczne, których skutkiem mogą być choroby nowotworowe

(Drew et al., 2009; Creutzenberg, 2012; von Garnier et al., 2013; Radziun et al., 2011; Kumar et al., 2012; Raemy et al., 2011; Zapór, 2012).

## 4. Badanie właściwości powierzchniowych modelowych błon biologicznych

---

W badaniach nad wyjaśnieniem mechanizmu oddziaływania cząstek o wymiarach nanometrowych na organizm człowieka ważną rolę przypisuje się błonom biologicznym, które oddzielają poszczególne struktury organizmu od środowiska (Chekman et al., 2012). Nanocząstki metali mogą zaburzać aktywność błon biologicznych, stwarzając tym samym zagrożenie dla zdrowia człowieka.

Ze względu na złożoność strukturalną i dynamiczną błon biologicznych eksperymentalne badania ich właściwości prowadzi się na układach modelowych wykorzystujących różnego typu membrany, wśród których wyróżnia się (Kuczera, 1983):

- ▶ membrany biomimetyczne, które nie są podobne do błon biologicznych ani pod względem składu chemicznego, ani pod względem poprzecznych wymiarów, ale są podobne pod względem pewnych właściwości, np. syntetyczna błona jonowymienna
- ▶ membrany biomimetyczne uformowane z substancji wchodzących w skład błon biologicznych; mogą mieć one podobne wymiary poprzeczne oraz podobne niektóre cechy strukturalne. Błony takie umożliwiają badanie właściwości błon biologicznych, np. elektrycznych i niektórych funkcji błon, np. transportu masy.

W badaniach wpływu różnych czynników na właściwości błon biologicznych stosowane są zarówno membrany jednoskładnikowe, jak i wieloskładnikowe (Farnoud et al., 2013; Matyszewska et al., 2008; Guzman et al., 2012; Szpotkowski et al., 2009; Kim et al.,

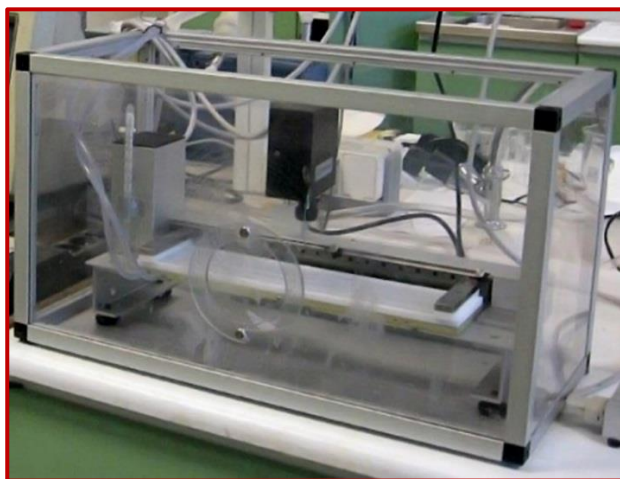
2013). Membrany jednoskładnikowe zbudowane są najczęściej z fosfatydylocholiny, która znajduje się np. w błonie erytrocytów oraz jest głównym składnikiem lipidowym surfaktantu płucnego tworzącego ciekłą błonę oddzielającą wdychane powietrze od nabłonka pęcherzyków płucnych (Guzman et al., 2011; Lopez-Rodriguez et al., 2014). Membrany wieloskładnikowe zawierają również inne składniki należące do grupy lipidów lub białek (Harishchandra et al., 2010; Bakshi et al., 2008; Guzman et al., 2012).

Najprostszymi biomimetycznymi układami membranowymi są agregaty tworzone przez związki powierzchniowo czynne, tj. micelle, odwrócone micelle, monowarstwy, wielowarstwy oraz obiekty kuliste (Hou et al., 2012; Peetla et al., 2009; Shibata et al., 2009).

## 5. Wpływ nanocząstek tlenków metali na właściwości powierzchniowe jednoskładnikowej modelowej błony biologicznej

---

W ramach prac badawczych prowadzonych w Centralnym Instytucie Ochrony Pracy – Państwowym Instytucie Badawczym przeprowadzono badania wpływu nanocząstek wybranych tlenków metali na aktywność monowarstwy lipidowej utworzonej z fosfatydylocholiny (DPPC) jako najprostszego układu modelującego błony biologiczne. W badaniach stosowano nanocząstki tlenków glinu, cynku i ceru. Badania realizowano na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej z wykorzystaniem wagi Langmuira-Wilhelmy'ego model MiniTrough LB5000 (KSV Instruments Ltd., Finlandia) – ryc. 2.



**Ryc. 2.** Widok ogólny wagi Langmuira-Wilhelmy'ego model MiniTrough LB5000 (KSV Instruments Ltd., Finlandia)

Polegały one na wytworzeniu monowarstwy DPPC na powierzchni fazy ciekłej przez naniesienie roztworu chloroformowego DPPC i odparowanie rozpuszczalnika. Powstałą w ten sposób monowarstwę o grubości jednej cząsteczki DPPC poddawano następnie kompresji w stałej temperaturze (37 °C) z zadaną szybkością (1,25 cm<sup>2</sup>/s) w celu wyznaczenia chwilowych wartości ciśnienia powierzchniowego, a następnie wartości ściśliwości.

Ciśnienie powierzchniowe  $\pi$  definiuje się jako:

$$\pi = \sigma_c - \sigma \quad (1)$$

gdzie:

$\sigma_c$  – wartość napięcia powierzchniowego czystej cieczy (hipofazy) w temperaturze pomiaru

$\sigma$  – chwilowa wartość napięcia powierzchniowego w badanym układzie.

Ściśliwość określa zdolność warstwy powierzchniowej do zmiany wielkości pod wpływem dwuwymiarowego ściskania. Ściśliwość powierzchni można wyznaczyć za pomocą równania:

$$\kappa = - \left( \frac{1}{A} \right) \left( \frac{dA}{d\pi} \right)_T \quad (2)$$

gdzie:

$\kappa$  – ściśliwość powierzchni ciecz – gaz zawierającej cząsteczki DPPC

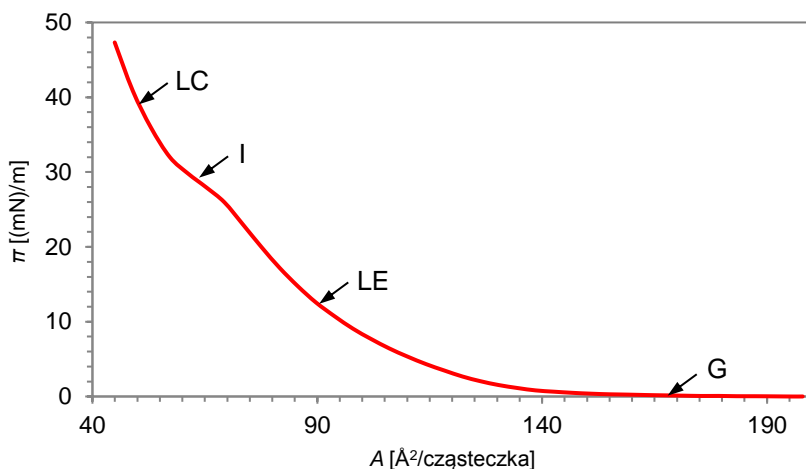
$\pi$  – ciśnienie powierzchniowe

$A$  – pole powierzchni międzyfazowej przypadającej na jedną cząsteczkę DPPC.

Krzywa zależności ciśnienia powierzchniowego od pola powierzchni przypadającego na jedną cząsteczkę badanej substancji wyznaczonej podczas kompresji monowarstwy przeprowadzonej w stałej temperaturze to izoterma kompresji. Przebieg izotermy kompresji dostarcza istotnych informacji na temat upakowania cząsteczek na powierzchni ciecz – gaz oraz oddziaływaniach pomiędzy nimi, a także

umożliwia zlokalizowanie stanów organizacji cząsteczek danej substancji w monowarstwie (Zuo, et al., 2008).

Na rycinie 3 przedstawiono izotermę kompresji monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej, tj. bez dodatku badanych cząstek.



**Ryc. 3.** Izoterma kompresji monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni fazy ciekłej. Na wykresie wskazano stany organizacji cząsteczek w monowarstwie: stan gazowy (G), stan cieczy rozprężonej (LE), stan przejściowy (I) oraz stan cieczy skondensowanej (LC)

W jej przebiegu można wyróżnić obszary, które charakteryzują się różną organizacją cząsteczek DPPC w monowarstwie, będącą następstwem postępującej kompresji i zmniejszającej się powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę fosfatydylocholiny (Zasadzinski et al., 2001):

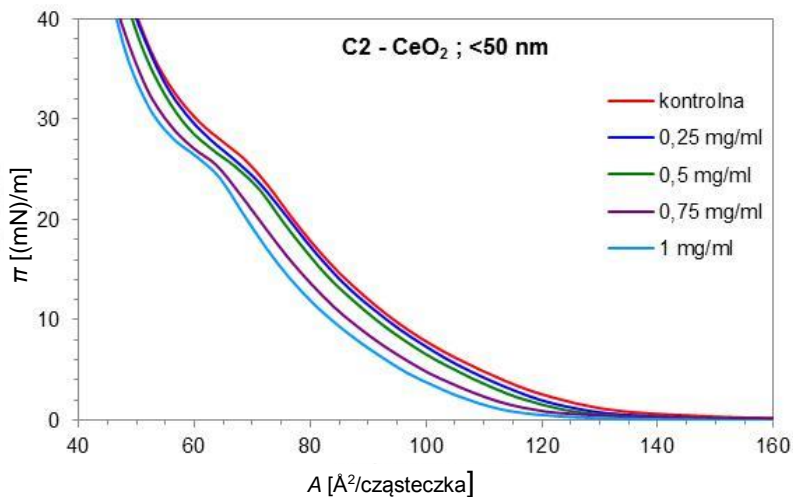
- ▶ stan gazowy (G) – odległości między cząsteczkami są duże, a oddziaływania między nimi są nieznaczne; cząsteczki mają dużą swobodę ruchu i poruszają się ruchem chaotycznym (termicznym)



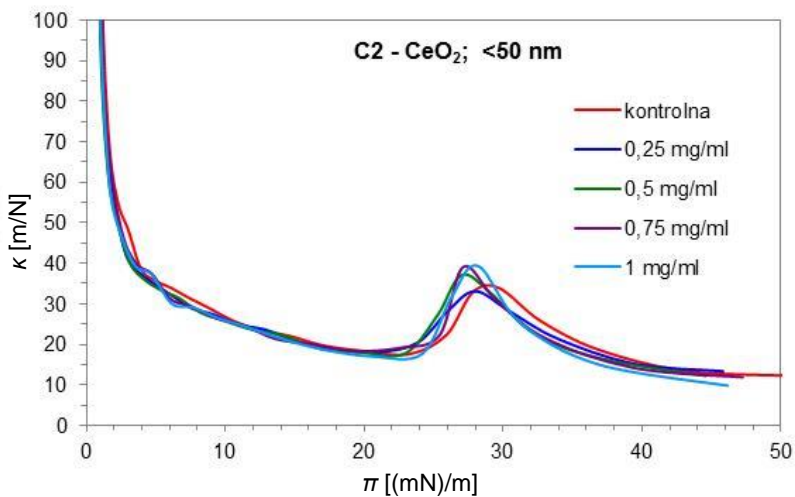
- ▶ stan cieczy rozprężonej (LE) – wzajemne oddziaływania są na tyle silne, że cząsteczki mogą przyjmować orientację bliższą pionowej
- ▶ stan przejściowy (I) – odpowiada przejściu fazowemu ze stanu cieczy rozprężonej (LE) do stanu cieczy skondensowanej (LC) i występuje w obrębie charakterystycznego „plateau” na wykresie izoterm kompresji
- ▶ stan cieczy skondensowanej (LC) – ułożenie cząsteczek fosfatydylocholiny jest niemal prostopadłe do powierzchni cieczy, odległości między łańcuchami węglowymi są bardzo małe, a siły przyciągania są znaczne.

Dalsza kompresja monowarstwy powoduje osiągnięcie stanu zwanego załamaniem monowarstwy (C). W momencie załamania monowarstwa traci ciągłość wskutek zmniejszania powierzchni międzyfazowej do wielkości niewystarczającej do pomieszczenia na niej wszystkich cząsteczek fosfatydylocholiny i wówczas pewna liczba cząsteczek jest usuwana z powierzchni – część molekuł jest włączana pod lub nad powierzchnię.

Na rycinach 4 i 5 przedstawiono odpowiednio izotermę kompresji i krzywe ściśliwości monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni fazy ciekłej zawierającej nanocząstki ditlenku ceru C2 o wymiarach mniejszych niż 50 nm. Porównanie przebiegu izoterm kompresji i krzywych ściśliwości monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni czystej fazy ciekłej (tj. bez dodatku badanych nanocząstek) – krzywych kontrolnych – oraz izoterm kompresji i krzywych ściśliwości monowarstwy lipidowej utworzonej na powierzchni zawiesin o różnych stężeniach nanocząstek umożliwia przeprowadzenie oceny wpływu nanocząstek na właściwości powierzchniowe modelowej błony biologicznej.



**Ryc. 4.** Izotermy kompresji monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni fazy ciekłej zawierającej cząstki ditlenku ceru C2



**Ryc. 5.** Krzywe ścisłości monowarstwy DPPC utworzonej na powierzchni fazy ciekłej zawierającej cząstki ditlenku ceru C2

Widać wyraźne zróżnicowanie w położeniu izoterm kompresji w zależności od stężenia cząstek ditlenku ceru C2 w układzie. Przy stężeniu 0,25 mg/ml przebieg izoterm kompresji jest bardzo zbliżony do izoterm kontrolnej. Wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek C2 w fazie ciekłej następuje przesunięcie izoterm kompresji w kierunku mniejszych wartości ciśnienia powierzchniowego i mniejszego pola powierzchni przypadającego na jedną cząsteczkę DPPC. Największe zmiany obserwuje się w przypadku układu o stężeniu cząstek 1 mg/ml, dla którego przejście ze stanu gazowego (G) w stan cieczy rozprężonej (LE) ma miejsce przy powierzchni wynoszącej ok. 130 Å<sup>2</sup>/cząst. Obszar stanu przejściowego (I) w tym układzie rozpoczyna się przy powierzchni cząsteczkowej wynoszącej ok. 72 Å<sup>2</sup>, a jego środek jest zlokalizowany przy powierzchni wynoszącej ok. 55 Å<sup>2</sup>/cząst.

W doświadczeniach przeprowadzonych z wykorzystaniem nanocząstek tlenków glinu, cynku i ceru wykazano, że badane cząstki powodują zmianę właściwości powierzchniowych monowarstwy DPPC.

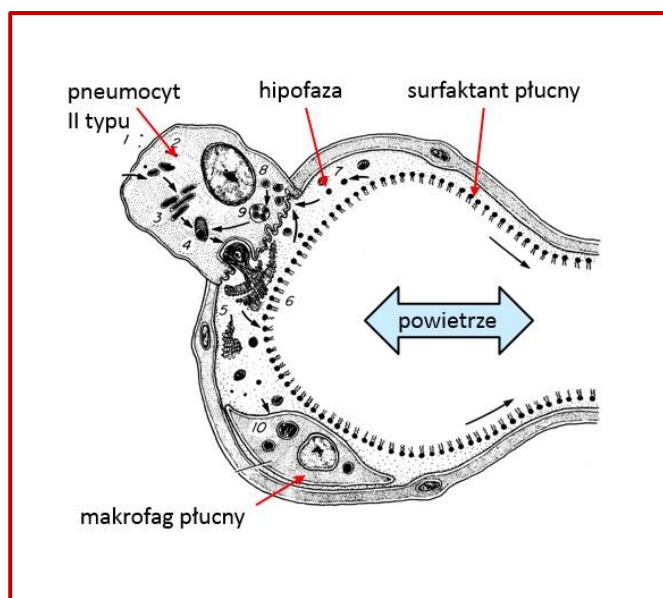
Obecność badanych cząstek w fazie ciekłej powoduje przesunięcie izoterm kompresji w kierunku niższych wartości ciśnienia powierzchniowego i mniejszych wartości pola powierzchni przypadającego na jedną cząsteczkę DPPC oraz zmianę ściśliwości monowarstwy lipidowej.

Świadczy to o reorganizacji cząsteczek na powierzchni międzyfazowej wywołanej prawdopodobnie adsorpcją cząsteczek DPPC na powierzchni badanych nanocząstek lub też penetracją i wbudowywaniem się nanocząstek w film powierzchniowy.

Intensywność tych zmian zależy od stężenia cząstek tlenku metalu w fazie ciekłej.

## 6. Wpływ nanocząstek tlenków metali na właściwości powierzchni wieloskładnikowej modelowej błony biologicznej

Przykładem wieloskładnikowej błony biologicznej jest surfaktant płucny. Stanowi on pierwszą barierę, która oddziela wdychane powietrze obecne w pęcherzykach płucnych od tkanki przegrody międzypęcherzykowej zawierającej kapilary krwionośne (Tzortzaki et al., 2007; Enhorning, 2008). Zgodnie z teorią Clementsa (Clements et al., 1958) nabłonek pęcherzyka płucnego pokryty jest cienką warstwą cieczy (hipofaza) o grubości ok. 0,1  $\mu\text{m}$  (ryc. 6).



Ryc. 6. Struktura układu surfaktantu płucnego

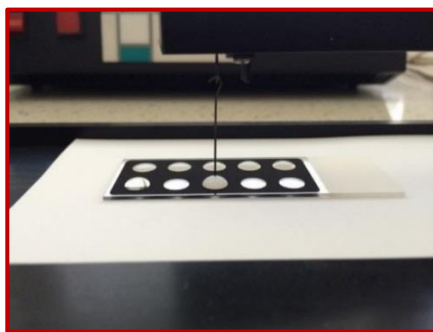
Na powierzchni hipofazy adsorbują się substancje powierzchniowo czynne tworzące surfaktant płucny. Są one wydzielane przez wyspecjalizowane komórki zwane pneumocytami II typu. Surfaktant płucny przez adsorpcję na powierzchni międzyfazowej ciecz – gaz wyściółki pęcherzykowej wpływa na wartość napięcia powierzchniowego panującego w pęcherzykach płucnych w czasie cyklu oddechowego (Enhoring, 2008; Zuo et al., 2008).

Surfaktant płucny jest mieszaniną lipidów (ok. 90% wagowych) i białek (ok. 10%) (Enhoring, 2008). Największą grupę lipidów (80–90% wagowych) stanowią fosfolipidy (PL), wśród których dominujący udział wagowy (ok. 80%) stanowią fosfatydylocholino (PC). Głównym związkiem w tej grupie jest L- $\alpha$ -dipalmitylfosfatydylocholina (DPPC), która w połączeniu z białkami surfaktantu płucnego odgrywa zasadniczą rolę w obniżaniu napięcia powierzchniowego pęcherzyków płucnych podczas wydechu. Białka stanowią około 10% składu surfaktantu, w tym 8% to białka niespecyficzne (głównie albuminy, immunoglobuliny, fibrynogen) i 2% – białka specyficzne zwane apoproteinami. Wyróżniono cztery grupy białek specyficznych: SP-A, SP-B, SP-C i SP-D. Apoproteiny SP-A i SP-B są apoproteinami hydrofilowymi, SP-C i SP-D zaś – hydrofobowymi. Największą grupę stanowią apoproteiny SP-A (ok. 90% całkowitej masy białek surfaktantu), następnie apoproteiny SP-D (ok. 2–5%) oraz apoproteiny SP-B i SP-C (łącznie ok. 5% masy białek surfaktantu, co daje ok. 1–2% całkowitej masy surfaktantu) (Halliday, 2008).

Surfaktantowi płucnemu przypisuje się istotne funkcje fizjologiczne i obronne ważne do prawidłowego funkcjonowania organizmu (Gradoń et al., 1989; Sosnowski, 2006). Surfaktant płucny, ulegając adsorpcji na powierzchni międzyfazowej ciecz – gaz ciekłej wyściółki pęcherzyków płucnych, pełni rolę regulatora wartości napięcia

powierzchniowego – przyczynia się do obniżenia napięcia powierzchniowego w pęcherzykach płucnych, co hamuje ich zapadanie się w końcowej fazie wydechu, zwiększenia stabilności pęcherzyków płucnych i przeciwdziałania obrzękowi płuc. Surfactant płucny spełnia ponadto bardzo ważną funkcję obronną, która polega m.in. na umożliwianiu przemieszczania się zdeponowanych cząstek do wyższych pięter drzewa oskrzelowego. Proces ten przebiega dzięki efektom Marangoniego – przepływowi warstwy cieczy, napędzanym przez gradienty napięcia powierzchniowego powstające w układzie surfaktantu płucnego o specyficznej, dynamicznej aktywności powierzchniowej.

Badanie wpływu nanocząstek tlenków metali na aktywność powierzchniową surfaktantu płucnego prowadzono na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej z wykorzystaniem mikrotensjometru DeltaPi (Kibron Inc., Finlandia) wyposażonego w igłę platynową (ryc. 7).



**Ryc. 7.** Widok płytki mikrotensjometru z naniesionymi kroplami zawiesin badanych cząstek

Badania polegały na obserwacji w czasie zmian ciśnienia powierzchniowego wyznaczonego na sferycznej powierzchni ograniczającej krople zawiesin cząstek wybranych tlenków metali w roztworze

modelowego surfaktantu płucnego. Pomiar ciśnienia powierzchniowego odbywał się na podstawie elektronicznie mierzonej i na bieżąco rejestrowanej przez komputer wartości siły wciągającej igłę do wnętrza cieczy.

W badaniach stosowano wieloskładnikowy preparat surfaktantowy pochodzenia odzwierzęcego (Beractantum; Abbott Laboratories, Francja), którego skład przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Skład chemiczny preparatu

Związek chemiczny	Zawartość [mg/1 ml preparatu]
Fosfolipidy (w tym fosfatydylocholina)	25,0 11,0–15,5
Triglicerydy	0,5–1,75
Wolne kwasy tłuszczowe	1,4–3,5
Białka (SP-B i SP-C)	0,1–1,0
Substancje pomocnicze (w tym dipalmitynian fosfatydylocholiny, kwas palmitynowy, chlorek sodu, woda oczyszczona, wodorotlenek sodu, kwas solny)	q.s.

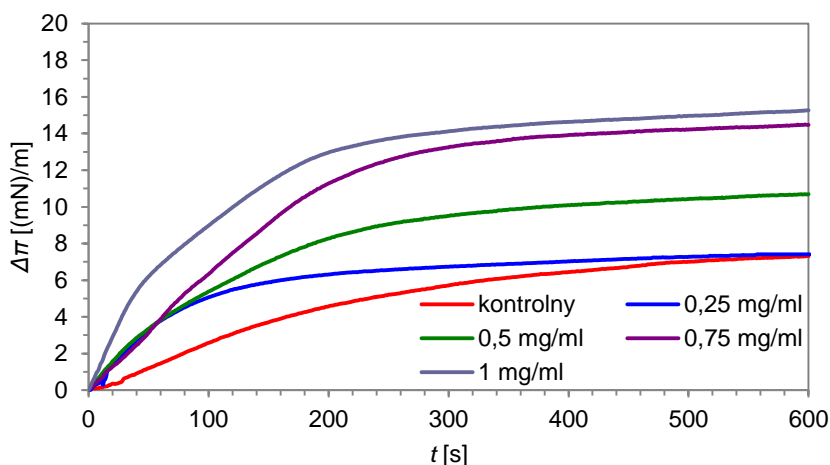
Jest to sterylny, oczyszczony ekstrakt z płuc bydłęcych zawierający głównie fosfolipidy, triglicerydy, wolne kwasy tłuszczowe oraz białka SP-B i SP-C, uzupełniony o specyficzne domieszki (m.in. dipalmitynian fosfatydylocholiny, kwas palmitynowy) wprowadzone

w celu możliwie najlepszego odtworzenia przez preparat własności powierzchniowo czynnych charakterystycznych dla endogennego surfaktantu płucnego.

Badaniom poddano zawiesiny cząstek tlenków metali o różnych stężeniach (w zakresie do 1 mg/ml) sporządzone z zachowaniem stałego stężenia roztworu surfaktantu (1,25 mg fosfolipidów/ml).

Analizie poddano przebieg krzywych obrazujących zmiany ciśnienia powierzchniowego  $\Delta\pi$  w czasie  $t$ , wyznaczonych przy różnych stężeniach  $c$  badanych cząstek w fazie ciekłej, w odniesieniu do przebiegu krzywych wyznaczonych w warunkach kontrolnych (bez dodatku badanych cząstek).

Na rycinie 8 przykładowo przedstawiono wyniki pomiarów zmian ciśnienia powierzchniowego na powierzchni ciec – powietrze w układach zawierających nanocząstki tritlenku glinu A1 o wymiarach 13 nm.



**Ryc. 8.** Zmiany ciśnienia powierzchniowego w czasie w obecności nanocząstek tritlenku glinu A1

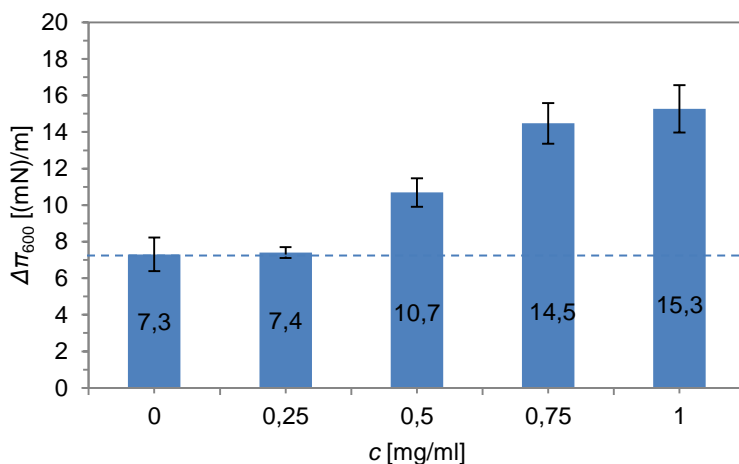


Obserwując przebieg krzywej kontrolnej, oznaczonej kolorem czerwonym, można stwierdzić stopniowy wzrost ciśnienia powierzchniowego (czyli obniżenie napięcia powierzchniowego) w czasie, który świadczy o adsorpcji surfaktantu na powierzchni międzyfazowej. Początkowo proces ten ma charakter bardziej dynamiczny, co objawia się większymi zmianami ciśnienia powierzchniowego w czasie. Po 200 s ciśnienie na powierzchni międzyfazowej wzrasta o  $4,6 \pm 0,7$  mN/m w stosunku do ciśnienia zanotowanego w chwili rozpoczęcia eksperymentu, natomiast po 400 s o  $6,5 \pm 0,4$  mN/m. Po czasie ok. 560 s zaobserwowano stabilizację wartości ciśnienia powierzchniowego i utrzymanie zmian ciśnienia na poziomie  $7,3 \pm 0,9$  mN/m.

Po dodaniu nanocząstek A1 do układu zmiany ciśnienia powierzchniowego ulegają stabilizacji w krótszym czasie: po ok. 160 s przy stężeniu 0,25 mg/ml, po ok. 260 s przy 0,5 mg/ml oraz po ok. 400 s przy stężeniu 0,75 mg/ml i 1 mg/ml.

Porównując krzywe uzyskane w obecności cząstek z krzywą kontrolną, obserwuje się sukcesywny wzrost zakresu zmian ciśnienia powierzchniowego ze wzrostem stężenia nanocząstek A1 w układzie. Na rycinie 9 zobrazowano zmiany ciśnienia powierzchniowego stwierdzone po czasie 600 s.

W obecności nanocząstek A1 o stężeniu 0,25 mg/ml zmiany ciśnienia powierzchniowego są zbliżone do warunków kontrolnych i wynoszą  $7,4 \pm 0,3$  mN/m. Następnie obserwuje się stosunkowo duży przyrost ciśnienia przy stężeniu 0,5 mg/ml, a następnie przy 0,75 mg/ml. Zmiany ciśnienia przy 0,75 mg/ml i 1 mg/ml są bardziej wyrównane i wynoszą odpowiednio  $14,5 \pm 1,1$  mN/m oraz  $15,3 \pm 1,3$  mN/m.



**Ryc. 9.** Zmiany ciśnienia powierzchniowego po czasie 600 s przy różnych stężeniach cząstek tritlenku glinu A1

W badaniach przeprowadzonych z wykorzystaniem nanocząstek tlenków glinu, cynku i ceru wykazano, że we wszystkich analizowanych przypadkach obecność nanocząstek powodowała wzrost ciśnienia powierzchniowego (a więc obniżenie napięcia powierzchniowego) na powierzchni międzyfazowej ciecz – powietrze.

Stwierdzono, że intensywność tych zmian zależy od stężenia nanocząstek. Wraz ze wzrostem stężenia badanych cząstek w zawiesinie modelowego surfaktantu zaobserwowano występowanie większej różnicy ciśnienia/napięcia powierzchniowego w stosunku do wartości początkowej.

W celu porównania oddziaływania cząstek tlenków glinu, cynku i ceru zestawiono wartości zmian ciśnienia powierzchniowego  $\Delta\pi_p$  wyznaczonego dla danego pyłu w odniesieniu do odpowiedniej wartości kontrolnej. Wartość  $\Delta\pi_p$  obliczano zatem z zależności:

$$\Delta\pi_p = \Delta\pi_t - \Delta\pi_k \quad (3)$$

gdzie:

$\Delta\pi_t$  – wartość zmiany ciśnienia powierzchniowego w badanym układzie po czasie  $t$

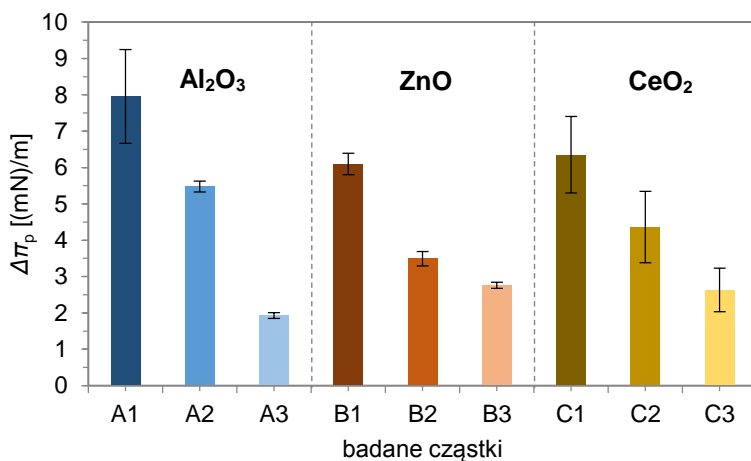
$\Delta\pi_k$  – wartość zmiany ciśnienia powierzchniowego w warunkach kontrolnych (bez dodatku cząstek tlenków metali) po czasie  $t$ .

Na rycinie 10 zestawiono dane dotyczące zmian ciśnienia powierzchniowego  $\Delta\pi_p$  wywołanych obecnością cząstek badanych tlenków metali: tritlenku glinu (A1, A2 i A3), tlenku cynku (B1, B2 i B3) i ditlenku ceru (C1, C2 i C3). Wykres przedstawia wartości wyznaczone przy stężeniu poszczególnych pyłów wynoszącym 1 mg/ml i określone po czasie 600 s. Na rycinie 11 przytoczono wartości powierzchni właściwej badanych cząstek wyznaczone metodą Brunauer, Emmetta i Tellera (BET).

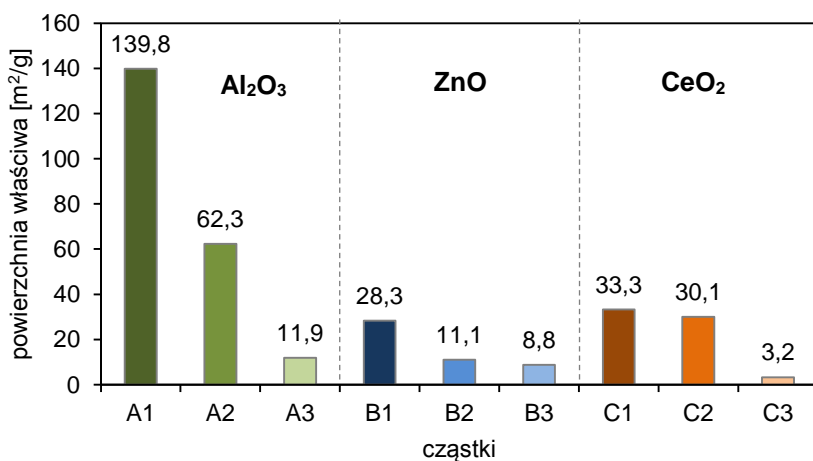
Stwierdzono, że zakres zmian ciśnienia powierzchniowego zależy od rozwinięcia powierzchni właściwej cząstek.

W każdej grupie pyłów (tritlenku glinu, tlenku cynku i ditlenku ceru) największe zmiany ciśnienia powierzchniowego były wywołane obecnością cząstek o największej powierzchni właściwej (odpowiednio A1, B1 i C1).

Najmniejsze zmiany ciśnienia powierzchniowego w poszczególnych grupach powodowały cząstki o najmniejszej powierzchni właściwej (odpowiednio A3, B3 i C3).



**Ryc. 10.** Porównanie zmian ciśnienia powierzchniowego w stosunku do warunków kontrolnych po czasie 600 s dla cząstek tlenku glinu (A1, A2 i A3), tlenku cynku (B1, B2 i B3) i ditlenku ceru (C1, C2 i C3) o stężeniu 1 mg/ml



**Ryc. 11.** Powierzchnia właściwa cząstek tlenku glinu (A1, A2 i A3), tlenku cynku (B1, B2 i B3) i ditlenku ceru (C1, C2 i C3)

## 7. Wnioski

---

W badaniach nad wpływem nanocząstek tlenków glinu, cynku i ceru na aktywność powierzchniową modelowych błon biologicznych wykazano, że:

- ▶ badane nanocząstki powodują zmianę właściwości powierzchniowych jedno- i wieloskładnikowej membrany biomimetycznej
- ▶ obecność badanych cząstek w fazie ciekłej powoduje zmianę wartości ciśnienia/napięcia powierzchniowego na powierzchni międzyfazowej ciecz – powietrze
- ▶ intensywność tych zmian zależy od stężenia cząstek tlenku metalu w fazie ciekłej i rozwinięcia powierzchni właściwej
- ▶ nanocząstki tlenków glinu, cynku i ceru mogą powodować zaburzenie właściwości błon biologicznych i w wyniku tego niekorzystnie wpływać na funkcjonowanie organizmu pracownika
- ▶ w celu ochrony pracowników przed narażeniem na tego typu nanomateriały konieczne jest stosowanie odpowiedniej profilaktyki technicznej i organizacyjnej.

## 8. Piśmiennictwo

---

- Bakshi M.S., Zhao L., Smith R., Possmayer F., Petersen N.O. (2008). *Metal nanoparticle pollutants interfere with pulmonary surfactant function in vitro*. *Biophysical Journal*, 94(3), 855–868.
- Bujak-Pietrek S. (2010). *Narażenie na nanocząstki w środowisku pracy jako zagrożenie dla zdrowia. Problemy oceny ekspozycji zawodowej*. *Medycyna Pracy*, 61(2), 183–189.
- Buzea C., Pacheco I.I., Robbie K. (2007). *Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity*. *Biointerphases*, 2(4), 17–71.
- Chekman I.S., Simonov P.V. (2012). *Structure and function of biological membranes: the impact of nanoparticles*. *International Journal of Physiology and Pathophysiology*, 3(2), 187–208.
- Cho W.S., Duffin R., Poland C.A., Howie S.E.M., MacNee W., Bradley M., Megson I.L., Donaldson K. (2010). *Metal oxide nanoparticles induce unique inflammatory footprints in the lung: important implications for nanoparticle testing*. *Environmental Health Perspectives*, 118(12), 1699–1706.
- Clements J.A., Brown E.S., Johnson R.P. (1958). *Pulmonary surface tension and the mucus lining of the lungs: some theoretical considerations*. *Journal of Applied Physiology*, 12, 262–268.
- Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (text with EEA relevance) (2011/696/EU)*. DzU UE L 275/38 z dnia 20 października 2011 r.
- Creutzenberg O. (2012). *Biological interactions and toxicity of nanomaterials in the respiratory tract and various approaches of aerosol generation for toxicity testing*. *Archives of Toxicology*, 86(7), 1117–1122.
- Davidson C.I., Phalen R.F., Solomon P.A. (2005). *Airborne particulate matter and human health: a review*. *Aerosol Science and Technology*, 39, 737–749.

- Donaldson K., Seaton A. (2012). *A short history of the toxicology of inhaled particles*. Particle and Fibre Toxicology, 9: 13.
- Donaldson K., Stone V., Clouter A., Renwick L., Mac New W. (2001). *Ultrafine particles*. Occupational and Environmental Medicine, 58, 211–216.
- Drew R., Frangos J., Hagen T. (Safe Work Australia) (2009). *Engineered nanomaterials: a review of the toxicology and health hazards*. Commonwealth of Australia, Barton.
- Enhorning G. (2008). *Surfactant in airway disease*. Chest, 133, 975–980.
- Farnoud A.M., Fiegel J. (2013). *Interaction of dipalmitoyl phosphatidylcholine monolayers with a particle-laden subphase*. Journal of Physical Chemistry B, 117, 12124–12134.
- Gradoń L., Podgórski A. (1989). *Hydrodynamical model of pulmonary clearance*. Chemical Engineering Science, 44(3), 741–749.
- Guzman E., Liggieri L., Santini E., Ferrari M., Ravera F. (2011). *Effect of hydrophilic and hydrophobic nanoparticles on the surface pressure response of DPPC monolayers*. Journal of Physical Chemistry C, 115(44), 21715–21722.
- Guzman E., Liggieri L., Santini E., Ferrari M., Ravera F. (2012). *DPPC-DOPC Langmuir monolayers modified by hydrophilic silica nanoparticles: Phase behaviour, structure and rheology*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 413, 174–183.
- Halliday H.L. (2008). *Surfactants: past, present and future*. Journal of Perinatology, 28, 47–56.
- Harishchandra R.K., Saleem M., Galla H.J. (2010). *Nanoparticle interaction with model lung surfactant monolayers*. Journal of the Royal Society Interface, 7, 15–26.
- Hou W.-C., Moghadam B.Y., Corredor C., Westerhoff P., Posner J.D. (2012). *Distribution of functionalized gold nanoparticles between water and lipid bilayers as model cell membranes*. Environmental Science and Technology, 46(3), 1869–1876.

- Kelsall R.W., Hamley I.W., Geoghegan M. (red.) (2009). *Nanotechnology*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.
- Kendall M., Holgate S. (2012). *Health impact and toxicological effects of nanomaterials in the lung*. *Respirology*, 17, 743–758.
- Kim K., Choi S.Q., Zell Z.A., Squires T.M., Zasadzinski J.A. (2013). *Effect of cholesterol nanodomains on monolayer morphology and dynamics*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 10(33), E3054–E3060.
- Komisja Ochrony Środowiska Naturalnego, Zdrowia Publicznego i Bezpieczeństwa Żywności (2009). *Sprawozdanie w sprawie aspektów regulacyjnych nanomateriałów (2008/2208(INI))*. Dokument z posiedzenia Parlamentu Europejskiego A6-0255/2009.
- Kuczera J. (1983). *Wpływ amfifilowych detergentów na błony liposomów*. *Zagadnienia biofizyki współczesnej*, 8, 53–101.
- Kumar S., Bhanjama G., Dilbaghi N., Manuja A. (2012). *Comparative investigation of cellular response of nanoparticles*. *Advances Materials Letters*, 3: 4.
- Li K.G., Chen J.T., Bai S.S., Wen X., Song S.Y., Yu Q., Li J., Wang Y.Q. (2009). *Intracellular oxidative stress and cadmium ions release induce cytotoxicity of unmodified cadmium sulfide quantum dots*. *Toxicology in Vitro*, 23, 1007–1013.
- Lopez-Rodriguez E., Perez-Gil J. (2014). *Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: From biophysics to therapy*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1838(6), 1568–1585.
- Matyszewska D., Bilewicz R. (2008). *DPPC monolayers as simple models of biological membranes for studies of interactions with perfluorinated compounds*. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio AA*, LXIII(16), 201–210.
- Nordberg F.G., Fowler B.A., Nordberg M., Friberg L.T. (Eds.). (2007). *Handbook on the toxicology of metals*. Elsevier, New York.
- Obersdörster G., Obersdörster E., Obersdörster J. (2005). *Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles*. *Environmental Health Perspectives*, 113, 823–839.



- OECD (2012). *Important issues on risk assessment of manufactured nanomaterials*. ENV/JM/MONO(2012)8.
- Peetla C., Stine A., Labhasetwar V. (2009). *Biophysical interactions with model lipid membranes: applications in drug discovery and drug delivery*. *Molecular Pharmaceutics*, 6(5), 1264–1276.
- Radziun E., Wilczyńska J.D., Książek I., Nowak K., Anuszevska E.L., Kunicki A., Olszyna A., Ząbkowski T. (2011). *Assessment of the cytotoxicity of aluminum oxide nanoparticles on selected mammalian cells*. *Toxicology in Vitro*, 25, 1694–1700.
- Raemy D.O., Limbach L.K., Rothen-Rutishauser B., Grass R.N., Gehr P., Birbaum K., Brandenberger C., Gunther D., Stark W.J. (2011). *Cerium oxide nanoparticle uptake kinetics from the gas-phase into lung cells in vitro is transport limited*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 77, 368–375.
- Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej 2015* (2015). Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa.
- Schwarze P.E., Øvrevik J., Låg M., Refsnes M., Nafstad P., Hetland R.B., Dybing E. (2006). *Particulate matter properties and health effects: consistency of epidemiological and toxicological studies*. *Human & Experimental Toxicology*, 25, 559–579.
- Shibata Y., Hu J., Kozlov M.M., Rapoport T.A. (2009). *Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles*. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 25, 14.1–14.26.
- Sivulka D.J., Conard B.R., Hall G.W., Vincent J.H. (2007). *Species-specific inhalable exposures in the nickel industry: a new approach for deriving inhalation occupational exposure limits*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 48(1), 19–34.
- Sosnowski T.R. (2006). *Efekty dynamiczne w układach ciecz–gaz z aktywną powierzchnią międzyfazową*. *Prace Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej*, t. XXX, z. 2., Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa.
- Szpotkowski K., Kozak M., Kozak A., Zieliński R., Wieczorek D., Jurga S. (2009). *Structural studies of selected DSPC-surfactant model systems of biological membranes*. *Acta Physica Polonica A*, 115(2), 561–564.

- Świdwińska-Gajewska A.M. (2007). *Nanocząstki (część 1) – Produkt nowoczesnej technologii i nowe zagrożenie w środowisku pracy*. *Medycyna Pracy*, 58(3), 243–251.
- Tzortzaki E.G., Vlachaki E., Siafakas N.M. (2007). *Pulmonary surfactant*. *Pneumon*, 20(4), 364–371.
- von Garnier C., Rothen-Rutishauser B., Blank F. (2013). *Nanoparticles in the respiratory track: modulation of antigen-presenting cell function*. *Journal of Environmental Immunology and Toxicology*, 1(3), 140–149.
- Wang H.J., Growcock A.C., Tang T.T., O'Hara J., Huang Y., Aronstam R.S. (2010). *Zinc oxide nanoparticle disruption of store-operated entry in a muscarinic receptor signaling pathway*. *Toxicology in Vitro*, 24, 1953–1961.
- Zaghbani I., Songmene V., Khettabi R. (2009). *Fine and ultrafine particle characterization and modeling in high-speed milling of 6061-T6 aluminum alloy*. *Journal of Materials Engineering and Performance*, 18, 38–48.
- Zapór L. (2012). *Toksyczność nanocząstek metali – wybrane zagadnienia*. *Przemysł Chemiczny*, 91(6), 1237–1240.
- Zapór L. (2013). *Nanometryczne struktury metali i tlenków metali w środowisku pracy. Potencjalne zagrożenia. Zasady bezpiecznej pracy*. CIOP-PIB, Warszawa.
- Zasadzinski J.A., Ding J., Warriner H.E., Bringezu F., Waring A.J. (2001). *The physics and physiology of lung surfactants*. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 6(5), 506–513.
- Zuo Y.Y., Veldhuizen R.A.W., Neumann A.W., Petersen N.O., Possmayer F. (2008). *Current perspectives in pulmonary surfactant – inhibition, enhancement and evaluation*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1778(10), 1947–1977.



